

## تشکیل کمپلکس بین بیوپلیمرهای موسیلاژ دانه بزرک و ژلاتین به روش توده ای شدن مرکب

فرزانه محسنی<sup>۱</sup>، سید امیرحسین گلی<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۲۹)

### چکیده

هدف از این مطالعه بررسی امکان تشکیل کمپلکس توده ای مرکب بین ژلاتین و موسیلاژ بزرک و بهینه سازی این کمپلکس در pH و نسبت های مختلف پروتئین - پلی ساکارید است. در pH های متفاوت از ۲/۵ تا ۴/۵ و نسبت های مختلف پروتئین - پلی ساکارید (۱:۱، ۱:۲ و ۱:۳) کمپلکس تشکیل و آنالیزهای پتانسیل زتا، طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز، تعیین کدورت محلول و راندمان برای تأیید تشکیل توده ای مرکب انجام گرفت. نتایج نشان می دهد در pH های کمتر از ۵، تشکیل واکنش های الکترواستاتیک بدلیل بار مثبت پروتئین و و بار منفی موسیلاژ امکان پذیر است. با توجه به راندمان توده ای مرکب و کدورت محلول، شرایط بهینه تشکیل کمپلکس در نسبت ۱:۱ از ژلاتین - موسیلاژ و pH برابر با ۳/۵ تعیین شد. همچنین بررسی طیف تبدیل فوریه مادون قرمز و جابه جایی نوار جذبی مربوط به گروه های OH- حذف نوارهای جذبی شاخص ژلاتین و موسیلاژ در طیف کمپلکس توده ای مرکب نیز دلیل دیگری برای تشکیل توده ای مرکب ژلاتین - موسیلاژ بود. از کمپلکس حاصل می توان در ریزپوشینه کردن ترکیبات حساس ماده غذایی و کنترل رهایش آنها استفاده کرد.

کلید واژگان: کمپلکس توده ای مرکب، ژلاتین، موسیلاژ بزرک، جاذبه الکترواستاتیک

\*مسئول مکاتبات: amirgoli@cc.iut.ac.ir

## ۱- مقدمه

در دهه های اخیر ایجاد واکنش بین بیوپلیمرها خصوصاً پروتئین و پلی ساکارید توجه بسیاری از محققین را به خود جلب نموده است، بطوریکه ترکیبات حاصل از این واکنش نقش مهمی در تولید محصولات جدید نظیر جایگزین های چربی، ژل ها، امولسیون ها و فیلم های خوراکی و همچنین داروها دارند [۱]. اگر همزمان دو بیوپلیمر در محیط مایع با هم مخلوط شوند، ممکن است واکنش های جذبی یا دفعی بین آن ها رخ دهد که بستگی به خصوصیات بیوپلیمرها، ویژگی های حلال و یا وضعیت همزدن دارد [۲]. واکنش های جذبی اغلب بین دو بیوپلیمر با بارمخالف و از طریق نیروی جاذبه الکترواستاتیک رخ می دهد و موجب تشکیل کمپلکس محلول و یا نامحلول می شود که می تواند به صورت یک فاز یا دوفاز خود را نشان دهد [۳].

کمپلکس های الکترواستاتیک پروتئین - پلی ساکارید می توانند در سیستم های رسانش و حفاظت از ترکیبات حساس غذا به کار روند، بدین منظور برای داشتن الگوی رهایش مناسب از ترکیبات حساس و کنترل رسانش در دستگاه گوارش بایستی پارامترهای مرتبط با تشکیل جاذبه های الکترواستاتیک بین بیوپلیمرها (کمپلکس توده ی مرکب) نظیر pH، غلظت مناسب بین بیوپلیمرها و نوع بیوپلیمرها بررسی و تعیین شوند [۴].

تاکنون مطالعات بسیاری در مورد تشکیل کمپلکس توده ی مرکب با استفاده از بیوپلیمرهای مختلف انجام شده است. کائوشیک و همکاران (۲۰۱۵) تشکیل کمپلکس توده ی مرکب بین پروتئین بزرک و صمغ دانه بزرک (موسیلاژ) را بهینه سازی نمودند و با بررسی اعداد زتا پتانسیل و کدورت محلول در نسبت های متفاوتی از بیوپلیمرها و pH های مختلف، نسبت ۳:۱ از بیوپلیمرها (سه قسمت پروتئین بزرک) و  $pH = 3/1$  را بهترین شرایط برای تشکیل کمپلکس توده ی مرکب گزارش کردند [۵]. در تحقیقی دیگر دوهورانیمانا و همکاران (۲۰۱۷) فرایند تولید توده مرکب را بین سدیم کربوکسی متیل سلولز و ژلاتین بهینه سازی نمودند. نتایج نشان داد که با کاهش pH به  $4/4$  جابجایی باندهای OH و NH که به ترتیب در طول موج های  $3437$  و  $3449$  بر سانتی متر نمایان می شوند به طول موج های کمتر مشاهده شد که نشان دهنده ی تغییراتی است که در طی شکل

گیری توده ی مرکب بین ژلاتین و سدیم کربوکسی متیل سلولز رخ داده است. همچنین کمپلکس ژلاتین-سدیم کربوکسی متیل سلولز پایداری حرارتی بیشتری را نسبت به ژلاتین از خود نشان داد و بنابراین کمپلکس بدست آمده برای محافظت و رسانش ترکیبات حساس غذا پیشنهاد شد [۶]. چانگ و همکاران (۲۰۱۶) نیز تولید توده ی مرکب بین ایزوله پروتئین کلزا و کیتوزان را بهینه سازی نمودند و با بررسی اعداد زتا پتانسیل و اندازه گیری راندمان توده ی مرکب و مقایسه کدورت محلول ها به این نتیجه رسیدند که بهترین نسبت پروتئین به کیتوزان نسبت ۱۶ به یک است و بهترین pH برای تشکیل توده ی مرکب، ۶ می باشد [۷].

ژلاتین بیوپلیمر مشتق شده از کلاژن است و از طریق تیمار قلیایی یا اسیدی کلاژن بدست می آید. واحد های سازنده و خواص بیولوژیکی آن کاملاً مشابه با کلاژن می باشد. در ساختمان ژلاتین تعداد اسیدهای آمینه آبگریز مانند پرولین و لوسین نسبت به اسیدهای آمینه آبدوست نظیر لیزین، سرین، آرژینین و هیدروکسی پرولین بسیار کمتر بوده و بنابراین یک پروتئین آب دوست محسوب شده و به راحتی در آب حل می شود [۸]. ژلاتین ژل برگشت پذیر با حرارت تولید می کند و دمای ذوب آن کمتر از  $35$  درجه سلسیوس می باشد. از آن جایی که این دما کمتر از دمای بدن است، خواص ارگانولپتیک منحصر به فردی در آن ایجاد می کند، از آن جمله می توان به قابلیت آن در رهایش ترکیبات عطری مواد غذایی اشاره کرد [۹]. موسیلاژ بزرک پودر سفید تا کرم رنگی است که رنگ آن نشان دهنده ی خلوص صمغ است. به آهستگی آب جذب می کند و تشکیل محلول با ویسکوزیته متوسط می دهد. ترکیب مونوساکارید های صمغ دانه بزرک شامل D-زایلووز، L-آرابینوز، L-رامنوز، L-گالاکتوز، D-گلوکز است. این صمغ از نظر خواص تکنولوژیکی بسیار شبیه به صمغ عربی است و دارای خواص تثبیت کنندگی و سوسپانسیون کنندگی بوده و می تواند به عنوان عامل امولسیون کننده در شیرهای شکلاتی و دسرها و پوشش سالاد به کار رود [۱۰].

با توجه به اینکه موسیلاژ بزرک می تواند براحتی به عنوان یک محصول جانبی از دانه بزرک حاصل گردد و ژلاتین یکی از پرکاربرد ترین پروتئین ها در صنعت غذا است، هدف از این

اطمینان از انحلال کامل ژلاتین، دما تا ۵۰ درجه ی سانتیگراد افزایش یافت.

محلول موسیلاژ بزرگ طبق روش کائوشیک و همکاران (۲۰۱۵) و با اندکی تغییرات تهیه شد [۵]. ۰/۵ گرم از پودر موسیلاژ توزین شده و به آن ۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه اضافه شد، سپس به مدت یک ساعت در دمای ۵۰ درجه ی سانتیگراد همراه با همزدن محلول آن تهیه شد. برای هیدراته شدن کامل موسیلاژ، محلول یک شب در دمای ۴ درجه ی سانتیگراد قرار گرفت.

### ۲-۳-۲- تهیه کمپلکس توده ی مرکب ژلاتین و موسیلاژ

#### بزرگ

کمپلکس توده ی مرکب بین ژلاتین و موسیلاژ بزرگ طبق روش دهورانیانا و همکاران (۲۰۱۷) و با اندکی تغییرات تهیه شد [۶]. همزمان با قرار گرفتن محلول ژلاتین در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد و همزدن، محلول موسیلاژ پس از صاف شدن به صورت قطره قطره به محلول ژلاتین اضافه شده به گونه ای که غلظت نهایی بیوپلیمرها به ۱ درصد (وزنی/ حجمی) رسید. سپس با اسیداستیک ۱۰ درصد (حجمی/ حجمی) pH نهایی تنظیم شد. پس از تنظیم pH، محلول نهایی به مدت یک ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد بر روی همزن قرار گرفت تا اتصالات بین ژلاتین و موسیلاژ شکل گیرد. سپس محلول در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت نگه داری شد تا رسوب توده ی مرکب تشکیل شود. در پایان با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه محلول سانتریفیوژ شده و رسوب حاصل در خشک کن انجامادی به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. پودر توده ی مرکب بدست آمده در دمای ۴ درجه ی سانتیگراد نگه داری شد.

### ۲-۳-۳- اندازه گیری بار الکتریکی سطحی بیوپلیمرها (زتا پتانسیل)

بار الکتریکی سطحی ذرات توسط دستگاه زتاسایزر (Nano ZSZEN3600, Malvern Instruments Ltd., United Kingdom) اندازه گیری شد. محلول های یک درصد ژلاتین و یک درصد موسیلاژ را در pH های ۲-۷ (تنظیم pH با اسیداستیک ۱۰٪/ حجمی/ حجمی و سود یک مولار) تهیه نموده و پتانسیل زتا با دستگاه قرائت گردید.

تحقیق تولید توده ی مرکب بین ژلاتین و موسیلاژ بزرگ و بهینه سازی تولید این توده ی مرکب از طریق اندازه گیری راندمان توده ی مرکب، بررسی اعداد زتا پتانسیل، اندازه گیری کدورت توده ی مرکب و همچنین بررسی طیف های تبدیل فوریه مادون قرمز بود.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- مواد اولیه

ژلاتین (نوع B، تهیه شده از پوست گاو با بلوم ۱۸۰) از شرکت بهین آزما (شیراز، ایران) تهیه شد. دانه ی بزرگ قهوه ای (*Linum usitatissimum*) از بازار محلی اصفهان تهیه شد. سایر مواد مورد نیاز آزمایشگاهی برای این مطالعه با درجه آنالیز از شرکت مرک تهیه شدند. برای تهیه محلول ها از آب دیونیزه استفاده شد.

### ۲-۲- استخراج موسیلاژ بزرگ

استخراج صمغ دانه بزرگ (موسیلاژ) طبق روش کوئی در سال ۱۹۹۴ انجام گرفت [۱۱]. ابتدا دانه ها بوجاری و تمیز شده و به نسبت یک به ۱۳ با آب دیونیزه با دمای ۸۰ درجه ی سانتیگراد مخلوط شدند و سپس در انکوباتور شیکردار در دمای ۸۰ درجه ی سانتیگراد با دور ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ ساعت همزده شدند. سپس دانه ها از محلول موسیلاژ توسط الک با مش ۴۰ جدا شدند. به محلول موسیلاژ به نسبت ۳:۱ اتانول ۹۶٪ اضافه گردید، رسوب حاصل توسط الک با مش ۶۰ جدا و پس از حلال زدایی در آون ۶۵ درجه ی سانتیگراد به مدت ۴ ساعت، در دستگاه خشک کن انجامادی خشک گردید و پودر حاصل در دمای ۴ درجه ی سانتیگراد نگه داری شد.

### ۲-۳- تهیه توده ی مرکب ژلاتین - موسیلاژ بزرگ

#### ۲-۳-۱- تهیه محلول های ژلاتین و موسیلاژ بزرگ

محلول ژلاتین طبق روش پنا و همکاران در سال ۲۰۱۰ تهیه شد [۱۲]. ۰/۵ گرم از پودر ژلاتین توزین شده و ۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد. سپس به مدت یک ساعت در دمای ۴۰ درجه ی سانتیگراد همراه با همزدن محلول آن تهیه شد، برای

**۲-۳-۴- طیف سنجی تبدیل مادون قرمز فوری**

در این تحقیق طیف مادون قرمز توده ی مرکب ژلاتین - موسیلاژ، ژلاتین و موسیلاژ با دستگاه اسپکترومتر بروکر (مدل تنسور ۲۷ ساخت آلمان) در محدوده ی عدد موجی ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی متر و توسط قرص های پتاسیم بروماید در دمای اتاق با قدرت تفکیک ۴ بر سانتی متر بدست آمد.

**۲-۳-۵- اندازه گیری کدورت محلول ها**

اندازه گیری کدورت به منظور بررسی تشکیل کمپلکس در محلول بیوپلیمرها انجام شد. بدین منظور از دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی-ماورا بنفش (AA-7000, Shimadzu, Tokyo, Japan) در طول موج ۷۰۰ نانومتر استفاده شد. قبل از آنکه محلول حاصل از کمپلکس ژلاتین و موسیلاژ در یخچال قرار گیرد، آن را همگن نموده و کدورت محلول در طول موج ذکر شده قرائت شد.

**۲-۳-۶- راندمان توده ی مرکب**

رسوب حاصل از سانتیفیوژ به یک پتری دیش انتقال داده شده و در خشک کن انجمادی خشک شد. وزن توده ی مرکب حاصل از طریق توزین پلیت قبل و بعد از خشک کردن بدست می آید. راندمان توده ی مرکب از طریق معادله زیر بدست می آید [۱۳]:

$$C = m/M * 100$$

C: راندمان توده ی مرکب

m: وزن توده ی مرکب خشک

M: وزن بیوپلیمرهای اولیه

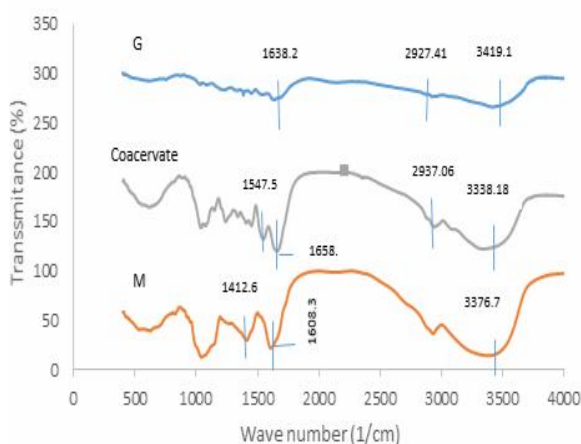
**۲-۴- تحلیل آماری نتایج**

برای تحلیل آماری داده ها از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با کمک نرم افزار SPSS استفاده شد. آزمون مقایسه ی میانگین نیز به روش LSD (حداقل تفاوت معنی دار) در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

**۳- نتایج و بحث****۳-۱- تاثیر pH بر بارالکتریکی سطحی بیوپلیمرها (زتا پتانسیل)**

pH یکی از فاکتورهای کلیدی موثر بر مقدار پتانسیل زتا محلول است زیرا که pH حلال بر روی میزان بارالکتریکی گروه های فعال در سطح بیوپلیمرها موثر است [۱۴]. میزان پتانسیل زتا محلول ژلاتین و موسیلاژ بزرک در محدوده pH ۲-۷ در شکل ۱ نشان داده شده است. همانگونه که در شکل مشاهده می شود ژلاتین مورد استفاده در این تحقیق (نوع B که دارای pH ایزو الکتریک ۴-۵ می باشد) در pH های کمتر از ۵ دارای بار الکتریکی سطحی مثبت است که بدین معنی است که گروه های  $\text{NH}_3^+$  در ژلاتین نسبت به گروه های  $\text{COO}^-$  بیشتر بوده و برآیند بار ژلاتین مثبت است. درحالیکه در pH های بالاتر از ۵ برآیند کلی بار های سطحی ژلاتین منفی است [۷]. موسیلاژ بزرک در pH های ۲-۷ دارای بار الکتریکی سطحی منفی بود که با گزارشات قبلی مبنی بر اینکه موسیلاژ یک پلی ساکاریدی آنیونی محسوب می شود، مطابقت داشت. با توجه به بار سطحی ذرات می توان گفت که در pH های کمتر از ۵ به دلیل بار مثبت ژلاتین و بار منفی موسیلاژ، امکان تشکیل کمپلکس توده ی مرکب با جاذبه الکترواستاتیک می باشد. دوهورانیماننا و همکاران (۲۰۱۷) نیز برای تشکیل توده ی مرکب بین ژلاتین و کربوکسی متیل سلولز به بررسی پتانسیل زتا این دو بیوپلیمر در محدوده ی pH ۳ تا ۷ پرداختند و به این نتیجه رسیدند که ژلاتین در pH های کمتر از ۵ دارای بارالکتریکی مثبت می باشد و کربوکسی متیل سلولز هم در محدوده ی pH ۳ تا ۷ دارای بارالکتریکی سطحی منفی است، ازاین رو امکان تشکیل نیروی جاذبه ی الکترواستاتیک بین دو بیوپلیمر در pH های کمتر از ۵ امکان پذیر است [۶]. در تحقیق دیگری که توسط کائوشیک و همکاران (۲۰۱۵) انجام شد امکان تشکیل توده ی مرکب ایزوله ی پروتئین بزرک و موسیلاژ بررسی شد که آنالیز بار سطحی این دو بیوپلیمر نشان داد که در pH های کمتر از ۴/۲ ایزوله ی پروتئین بزرک دارای بار سطحی مثبت و موسیلاژ دارای بار سطحی منفی است، بنابراین این محققین امکان تشکیل توده ی مرکب را در این محدوده بررسی کردند [۵]. با توجه به مقدار پتانسیل زتا در ژلاتین و موسیلاژ و pH ایزوالکتریک ژلاتین، در بخش بعدی تحقیق اثر pH های کمتر از ۵ بر خصوصیات توده ی مرکب تشکیل شده بررسی شد.

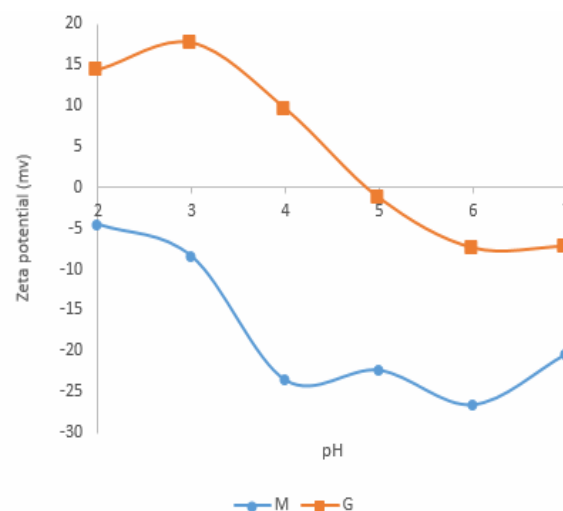
وهمکاران (۲۰۱۶) مطابقت دارد. آن‌ها خصوصیات رئولوژیکی ژل توده ی مرکب حاصل از پیوند ژلاتین و صمغ عربی که با تانیک اسید اکسید شده اتصال عرضی برقرار کرده است را بررسی نمودند. بررسی طیف تبدیل فوریه مادون قرمز این ژل نشان داد که طیف های جذبی  $\text{NH}_3^+$  در ژلاتین و  $\text{COO}^-$  در صمغ عربی در زمان تشکیل توده ی مرکب ناپدید شده که نشان دهنده ی برقراری نیروی جاذبه ی الکترواستاتیک بین این دو بیوپلیمر است [۱۵]. در تحقیق دیگری که توسط انوری وهمکاران (۲۰۱۵) انجام شد، خصوصیات توده ی مرکب حاصل از ژلاتین و صمغ عربی در دماهای مختلف جداسازی توده ی مرکب بررسی شد. طیف تبدیل فوریه مادون قرمز ژلاتین و صمغ عربی به ترتیب دارای نوارهای جذبی شاخص ۱۶۳۵ و ۱۶۱۲ بر سانتی متر بود که پس از تشکیل توده ی مرکب نوار جذبی ۱۶۱۲ مربوط به صمغ عربی حذف گردید و نوار جذبی ۱۶۳۵ مربوط به ژلاتین نیز جابه جا شد که این تغییرات نشان دهنده ی تشکیل پیوند الکترواستاتیک بود [۱۶].



**Fig 2** Fourier infrared spectroscopy of gelatin (G), flaxseed mucilage (M) and the coacervate powders  
**۳-۳- تاثیر pH و نسبت های مختلف**

### ژلاتین- موسیلاژ بر راندمان توده ی مرکب

راندمان توده ی مرکب در pH های ۲/۵، ۳، ۳/۵، ۴ و ۴/۵ و در نسبت های ۱:۱، ۱:۲، ۱:۳، ۲:۱ و ۳:۱ پروتئین- پلی ساکارید اندازه گیری شد (شکل ۳). همانطور که انتظار می رفت نسبت های مختلف ژلاتین-موسیلاژ و همچنین pH های مختلف بر



**Fig 1** Zeta potential of gelatin (G) and flaxseed mucilage (M) solutions at pH 2 -7

### ۲-۳- طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز

تغییراتی که در ساختار ثانویه ی ژلاتین رخ می دهد و همچنین اتصالات بین ژلاتین و موسیلاژ را می توان با بررسی ۳ ناحیه از طیف تبدیل فوریه مادون قرمز مشاهده نمود. ناحیه ۲۳۰۰-۳۶۰۰ بر سانتی متر که OH و NH کششی را مشخص می کند. ناحیه ۳۰۰۰-۳۱۰۰ بر سانتی متر که  $\text{C-H}=\text{C}$  و  $\text{NH}_3^+$  کششی را مشخص می نماید و ناحیه ۱۶۰۰-۱۷۰۰ بر سانتی متر که  $\text{C=O}$  کششی و NH خمشی را نشان می دهد [۱۵]. در ژلاتین نوار جذبی ۱۶۱۹/۱۷ بر سانتی متر معرف گروه های OH و NH و نوار جذبی ۱۶۳۸/۲۳ بر سانتی متر معرف گروه های  $\text{NH}_3^+$  می باشد. در مورد موسیلاژ هم نوار جذبی شاخص ۳۳۷۶/۷ بر سانتی متر نشان دهنده ی گروه های OH و NH و نوارهای جذبی ۱۶۰۸/۳۴ و ۱۴۱۲/۶ بر سانتی متر معرف گروه های  $\text{COO}^-$  است (شکل ۲).

همانگونه که در طیف توده ی مرکب نیز مشاهده می شود، نوارهای جذبی مربوط به  $\text{NH}_3^+$  در ژلاتین و  $\text{COO}^-$  در موسیلاژ، در طیف توده ی مرکب ناپدید شده است که می تواند نشان دهنده ایجاد جاذبه الکترواستاتیک بین ژلاتین و موسیلاژ و تشکیل کمپلکس باشد. همچنین جابه جایی نوار جذبی OH در توده ی مرکب نسبت به ژلاتین و موسیلاژ هم دلیل دیگری بر ایجاد اتصالات بین این دو بیوپلیمر است. این نتایج با نتایج انوری

شد. با بررسی راندمان توده ی مرکب این نتیجه حاصل شد که در نسبت ۱:۷ ( ژلاتین:سدیم کربوکسی متیل سلولز) بیشترین راندمان تشکیل توده ی مرکب حاصل می شود [۶].

### ۳-۴- تاثیر pH و نسبت های مختلف

#### ژلاتین - موسیلاژ بر کدورت محلول

کدورت محلول یک درصد ژلاتین و موسیلاژ بزرک در pH های ۲/۵، ۳، ۳/۵، ۴ و ۴/۵ در شکل ۴ نشان داده شده است. ملاحظه می شود که کدورت محلول موسیلاژ نسبت به ژلاتین در pH های مختلف بالاتر بوده و با افزایش pH از ۲/۵ به ۳/۵ کدورت محلول موسیلاژ از ۰/۵۶۳ به ۰/۶۴۶ افزایش می یابد. اما محلول ژلاتین دارای کدورت نسبتاً ثابتی بود که در pH های ۴ و ۴/۵ افزایش بیشتری را نشان داد که بدلیل نزدیک شدن ژلاتین به نقطه ایزوالکتریک و تمایل به نامحلول شدن است که در نهایت موجب افزایش کدورت محلول ژلاتین می شود. در شکل ۴ نیز کدورت توده ی مرکب های حاصل از نسبت های مختلف ژلاتین- موسیلاژ بزرک در pH های مختلف نشان داده شده است. به میزانی که اتصالات بین ژلاتین و موسیلاژ در یک نسبت خاص و یک pH خاص افزایش یابد میزان جذب نور در طول موج ۷۰۰ نانومتر نیز افزایش یافته و نشان دهنده کدورت بیشتر محلول و تشکیل کمپلکس بیشتر است. همانگونه که در شکل نیز ملاحظه می شود بیشترین مقدار کدورت توده ی مرکب در pH برابر با ۳/۵ برای نسبت های ۱:۱ و ۱:۲ (ژلاتین : موسیلاژ) ، دیده می شود که تفاوت چندانی با pH برابر با ۴ ندارد. از طرفی کدورت محلول هایی که ژلاتین بیشتری دارند تا pH برابر با ۴ افزایش یافته و پس از آن کاهش می یابد که بدلیل نامحلول شدن ژلاتین و شکسته شدن اتصالات بین موسیلاژ و ژلاتین و در نهایت کاهش کدورت محلول است. با توجه به نتایج راندمان توده ی مرکب که نشان دهنده ی بیشتر بودن راندمان در برابر با ۳/۵ و نسبت ۱:۱ موسیلاژ و ژلاتین بوده است و همچنین نتایج کدورت که در تحقیقی که توسط یی و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد، تشکیل توده ی مرکب حاصل از ژلاتین و صمغ عربی بهینه سازی شد که با بررسی نتایج کدورت محلول، بهترین pH ۴/۱ و بهترین نسبت ژلاتین- صمغ عربی ۱:۱ در نظر گرفته شد [۱۸].

میزان راندمان توده ی مرکب موثر بودند [۱۷]. بیشترین میزان راندمان توده ی مرکب در pH برابر با ۳/۵ و نسبت ۱:۱ از ژلاتین- موسیلاژ حاصل شد که می تواند به دلیل اختلاف بیشتر پتانسیل زتا در سطح ژلاتین و موسیلاژ در pH برابر با ۳/۵ باشد. راندمان توده ی مرکب در نسبت های ۱:۲ و ۱:۳ (ژلاتین:موسیلاژ) به ترتیب از ۲۴/۰ و ۷/۹ در pH ۳/۵ به ۳۶/۵ و ۳۴/۸ در pH ۴/۵ افزایش می یابد که احتمالاً بدلیل نزدیک شدن ژلاتین به نقطه ایزوالکتریک خود و تمایل به رسوب کردن پروتئین به تنهایی است (شکل ۳).

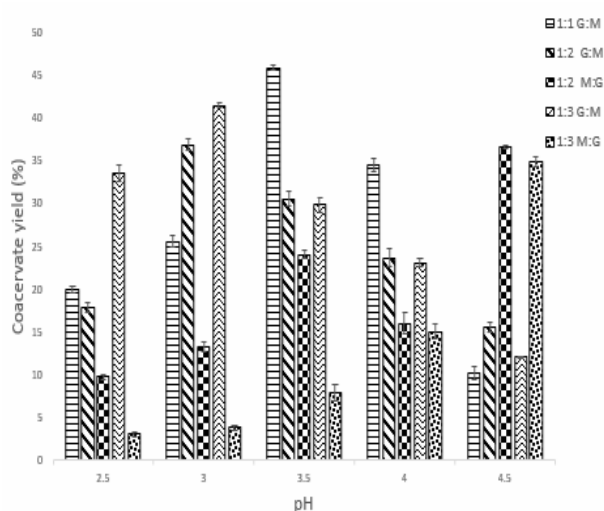


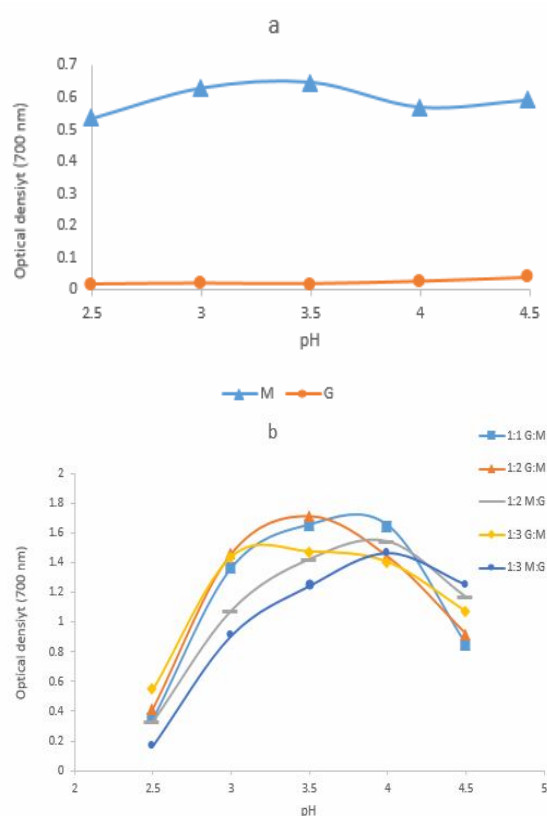
Fig 3 Coacervate yield of gelatin-flaxseed mucilage complex at pH 2.5-4.

چانگ و همکاران (۲۰۱۶) نیز برای بهینه سازی توده ی مرکب ایزوله پروتئین کلزا و کیتوزان با بررسی راندمان توده ی مرکب و همچنین کدورت محلول در نسبت های مختلف پروتئین- کیتوزان و در pH ثابت ۶، به این نتیجه رسیدند که در نسبت ۱:۶ به بیشترین کدورت و راندمان توده ی مرکب حاصل شد و با افزایش نسبت پروتئین - کیتوزان راندمان توده ی مرکب کاهش یافت. همچنین با بررسی تاثیر pH های مختلف بر راندمان توده ی مرکب دریافتند که با افزایش pH از ۴ به ۶ راندمان توده ی مرکب از ۶۸ درصد به ۷۸ درصد افزایش یافت و با افزایش بیشتر pH راندمان توده ی مرکب کاهش می یابد که می تواند بدلیل کاهش تعداد بارهای سطحی در سطح دو بیوپلیمر باشد [۷]. بهینه سازی تشکیل توده ی مرکب سدیم کربوکسی متیل سلولز-ژلاتین توسط دوهورانیما و همکاران (۲۰۱۷) انجام

مرکب میتوان در تشکیل کمپلکس های سه گانه جدیدی که با ترکیباتی همچون فنولیک اسید حاصل می شود، استفاده کرد.

### ۵- منابع

- [1] Anvari, M., Pan, Ch., Yoon, W and Chung, D. 2015. Characterization of fish gelatin – gum arabic complex coacervates as influenced by phase separation temperature. *international Journal of Biological Macromolecules*. 79: 894-902.
- [2] Yang, Y., Anvari, M., Pan, Ch and Chung, D. 2012. Characterization of interactions between fish gelatin and gum Arabic in aqueous solutions. *Food Chemistry*. 135: 555-561.
- [3] McClements, D. J. 2006. Non- covalent interactions between proteins and polysaccharides. *Biotechnology Advances*. 24: 621-625.
- [4] Thimma, R. T. and Tammishetti, S. 2003. Study of complex coacervation of gelatin with sodium carboxymethyl guar gum: microencapsulation of clove oil and sulphamethoxazole. *Journal of Microencapsulation*. 20: 1481-1486.
- [5] Kaushik, p., Dowling, K., Barrow, C and Adhikari, B. 2015. Complex coacervation between flaxseed protein isolate and flaxseed gum. *Food Research International*. 72: 91-97.
- [6] Duhoranimana, E., Karangwa, E. L., Lai, X., Xu, J., Yu, SH., Xia, X., Zhang, B., Muhoza and Habinshuti, I. 2017. Effect of sodium carboxymethyl cellulose on complex coacervates formation with gelatin: coacervates characterization, stabilization and formation mechanism. *Food Hydrocolloid*. 69: 111-120.
- [7] Chang, P.G, Gupta, R., Timilsena, Y. P and Adhikari, B. 2016. Optimisation of the complex coacervation between canola protein isolate and chitosan. *Journal of FoodEngineering*. 191:58-66.
- [8] Toledano, O. and Magdassi, S. 1997. Formation of surface active gelatin by covalent attachment of hydrophobic chains. *Journal of Colloid and Interface Science*. 193: 172-17.



**Fig 4** Optical density of gelatin and mucilage (a) and the coacervate at different biopolymers ratio and pH (b)

### ۴- نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که با توجه به میزان پتانسیل زتا، ایجاد اتصالات الکترواستاتیکی بین ژلاتین و موسیلاژ بزرگ در pH کمتر از ۵ امکان پذیر است. نتایج بررسی طیف تبدیل فوریه مادون قرمز تشکیل توده ی مرکب را با جابه جا شدن نوارهای جذبی مربوط به گروه های هیدروکسیل و همچنین ناپدید شدن نوارهای جذبی مربوط به ژلاتین و موسیلاژ بزرگ تایید کرد. بیشترین میزان کمپلکس در ۳/۵ pH و در نسبت مساوی از ژلاتین- موسیلاژ حاصل شد. کمپلکس تولیدی می تواند در ریزپوشینه کردن ترکیبات حساس به اکسیداسیون و یا در سیستم های رسانش به منظور رهایش کنترل شده ترکیبات زیست فعال در صنایع غذایی و دارویی استفاده شود. همچنین از این توده

- Arabic complex. *Jurnal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 1521-1526.
- [15] Anvari, M. and Chung, D. 2016. Dynamic rheological and structural characterization of fish gelatin – gum Arabic coacervate gels cross- linked by tannic acid. *Food Hydrocolloids*. 60:516-521.
- [16] Anvari, M., Pan, Ch. H., Yoon, W. B. and Chung, D. 2015. Characterization of fish gelatin – gum Arabic complex coacervates as influenced by phase separation temperature. *Internatinal. Journal of . Biological. Macromolecules*. 79: 894- 902.
- [17] Huang, G. Q., Xiao, Y. T. and Yang, J. X. 2012. Complex coacervation of soybean protein isolate and chitosan. *Food Chemistry*. 135: 534-539.
- [18] Lv, Y., Zhang, X., Abbas, Sh and Karangwa, E. 2012. Simplified optimization for microcapsule preparation by complex coacervation based on the correlation between coacervates and the corresponding microcapsule. *Journal of . Food Engineering*. 111: 225-233.
- [9] Cole and CGB. 2000. Gelatin. PP. 1183-1188. In: F.J. Francis (Ed). *Encyclopedia of Food Science and Technology*, John Wiley & Sons, New York.
- [10] Mazza, G. and Biliaderis, G. 1989. Functional properties of flaxseed mucilage. *Journal of Food Science*. 54: 1302-1306.
- [11] Cui, W., Mazza, G., Oomah, B and Biliaderis, C. 1994. Optimization of an aqueous extraction process for flaxseed gum by response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*. 27: 363-369.
- [12] Pena, C., de la Caba , K., Eceiza, A., Ruseckaite , R and Mondragon, I. 2010. Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tannin addition. *Bioresource Technology*. 101: 6836-6842.
- [13] Wang, B., Adhikari, B and Barrow ,C. 2014. Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin – sodium hexametaphosphate using complex coacervation. *Food Chemistry*. 158: 358-365.
- [14] Liu, S., Low, N. H and Nickerson, M. T. 2009. Effect of pH, salt, and biopolymer ratio on the formation of protein isolate- gum



## Complex formation between biopolymers of gelatin and flaxseed mucilage by coacervation method

Mohseni, F.<sup>1</sup>, Goli, S. A. H.<sup>2\*</sup>

1. M.Sc. student , Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

(Received: 2018/01/20 Accepted: 2018/05/19)

The aim of this study was to investigate the possibility of formation coacervate complex between gelatin and flaxseed mucilage and to optimize this complex at different pH and protein-polysaccharide ratio. At different pH from 2.5-4.5 and ratio of protein-polysaccharide (1:1, 1:2 and 1:3) the complex was formed and various experiments included potential zeta, Fourier infrared spectroscopy, solution turbidity and coacervate efficiency were performed to confirm the coacervate complex formation. Results showed that at pH<5, formation of electrostatic interactions are possible due to positive charge of gelatin and negative charge of mucilage. Regarding to coacervate efficacy and solution opacity, the optimized weight ratio of gelatin to mucilage and pH for complex formation were 1:1 and 3.5, respectively. Furthermore, the FT-IR spectrum demonstrated the transforming of -OH band and removing typical absorption peaks of gelatin and mucilage which indicated complex formation between two compounds. The complex could be applied in encapsulation of susceptible food ingredients and monitoring their release.

**Key words:** Coacervate Complex, Gelatin, Flaxseed mucilage, Electrostatic force.

---

\*Corresponding author E-Mail Address: amirgoli@cc.iut.ac.ir